

**Rodrigo Granato**

**“AVALIAÇÃO BIOMECÂNICA E HISTOMORFOLÓGICA DE  
IMPLANTES EM FORMA DE PLATÔS COM QUATRO  
SUPERFÍCIES DISTINTAS”**

Florianópolis  
2010



**Rodrigo Granato**

**“AVALIAÇÃO BIOMECÂNICA E HISTOMORFOLÓGICA DE  
IMPLANTES EM FORMA DE PLATÔS COM QUATRO  
SUPERFÍCIES DISTINTAS”**

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Odontologia do  
Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Santa Catarina,  
como requisito parcial para obtenção do título de DOUTOR em  
ODONTOLOGIA, área de concentração Implantodontia.

**Orientador: José Nazareno Gil**

**Co-orientador: Paulo Guilherme Coelho**

Florianópolis  
2010

Catálogo na fonte pela Biblioteca Universitária  
da  
Universidade Federal de Santa Catarina

G748a Granato, Rodrigo

Avaliação biomecânica e histomorfológica de implantes  
em forma de platôs com quatro superfícies distintas [tese] /  
Rodrigo Granato ; orientador, José Nazareno Gil. -  
Florianópolis, SC, 2010.  
49 p.: il., tabs.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina,  
Centro de Ciências da Saúde . Programa de Pós-Graduação em  
Odontologia.

Inclui referências

1. Odontologia. 2. Implantes dentários. 3. Histologia.  
4. Biomecânica. I. Gil, José Nazareno. II. Universidade  
Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em  
Odontologia. III. Título.

CDU 616.314

**Dedico este trabalho à minha grande família,**

Francine, Romeu, Eliana, Renata, Patrícia, Priscila e Vera,  
agradeço todo apoio, dedicação e compreensão, pois todos os  
meus objetivos alcançados e que ainda tenho a alcançar eu  
devo a vocês.

Muito obrigado!



## **AGRADECIMENTOS**

Ao meu orientador, professor José Nazareno Gil, por todo apoio, amizade e ensinamentos.

Ao meu co-orientador, Paulo Guilherme Coelho, pela confiança e por ter me mostrado o que é ser um pesquisador.

Ao amigo Charles Marin, pela parceria neste e em tantos outros desafios.

Mais uma vez à minha família, por tudo o que já fizeram por mim. Amo todos vocês.

À minha esposa Francine, pelo apoio, compreensão e ajuda em mais esta etapa. Amo você.

Aos colegas de mestrado e doutorado, Elisa, André, Luis, Moira, Newton, Ernesto, João, Armando, Pamela e Daniel, aprendi muito com todos vocês.

Aos amigos da residência, Fabiano, Sergio, Jonathas, Felipe, Leonardo, Fernando, e Daniele, pela amizade e ajuda durante estes cursos de pós-graduação.

Às funcionárias do CEPID, Miriam, Gisella, Dolores e Nilcelia, pela amizade e apoio.

À empresa Bicon, pelo apoio dado a esta pesquisa, na figura do colega Marcelo Suzuki.

À equipe da Disciplina de Técnica Operatória da UFSC, pela ajuda prestada durante toda esta pesquisa.

Aos médicos veterinários Geraldo e Sandro, pela amizade e dedicação a este estudo.

Em especial aos professores Antônio Carlos Cardoso, Marco Aurélio Bianchini e Ricardo de Sousa Magini, amigos, que me ajudaram muito na realização de um sonho.





## RESUMO

**GRANATO, Rodrigo. AVALIAÇÃO BIOMECÂNICA E HISTOMORFOLÓGICA DE IMPLANTES EM FORMA DE PLATÔS COM QUATRO SUPERFÍCIES DISTINTAS** 49 f. Tese (Doutorado em Odontologia – Área de concentração Implantodontia) – Curso de Pós Graduação em Odontologia, Universidade Federal de Santa Catarina.

**Objetivo:** Avaliar a resposta óssea inicial em implantes em forma de platôs com quatro superfícies distintas.

**Materiais e Métodos:** Os grupos foram formados pelas seguintes superfícies (n=12 por superfície): lisa (M), jateamento de alumina/ataque ácido (AB/AE), AB/AE + recobrimento cerâmico nanométrico (NANO) e spray de plasma de fosfato de cálcio (PSCaP). Os implantes foram instalados nos rádios de 12 cães Beagle, e permaneceram por períodos de 3 e 5 semanas in vivo. Após a eutanásia, os implantes foram submetidos a teste biomecânico de torque até a fratura interfacial e depois processados de forma não-descalcificada para análise histológica. A análise estatística utilizada foi uma GLM ANOVA com nível de significância de 5%.

**Resultados:** O torque para fratura interfacial foi significativamente maior para o grupo PSCaP do que para os outros grupos ( $p<0.001$ ). A avaliação histomorfológica demonstrou formação de osso imaturo em 3 semanas, e sua substituição por osso lamelar em 5 semanas. O tempo in vivo não teve efeitos sobre o teste biomecânico.

**Conclusão:** O tratamento de superfície por PSCaP influenciou positivamente a fixação biomecânica em estágios iniciais de osseointegração para implantes em forma de platôs.

**Palavras-chaves:** Implante, superfície, histologia, biomecânica, in vivo.



## **ABSTRACT**

**GRANATO, Rodrigo. BIOMECHANICAL AND HISTOMORPHOLOGIC EVALUATION OF FOUR SURFACES ON PLATEAU ROOT FORM IMPLANTS.** 49 f. Tese (Doutorado em Odontologia – Área de concentração Implantodontia) – Curso de Pós Graduação em Odontologia, Universidade Federal de Santa Catarina.

**Objective:** To evaluate the early bone response to plateau-root form dental implants with four different surface treatments.

**Study design:** Surface treatments comprised (n=12 each): as-machined (M), alumina-blasted/acid-etched (AB/AE), alumina-blasted/acid-etched + nanothickness bioceramic coating (Nano), and plasma sprayed calcium-phosphate (PSCaP). Implants were placed in the radius diaphyses of 12 beagle dogs, remaining in vivo for 3 and 5 weeks. After euthanasia, the implants were subjected to torque to interface fracture and subsequently nondecalcified processed for histomorphology. Statistical analysis was performed by a GLM ANOVA model at 5% significance level.

**Results:** Torque to interface fracture was significantly greater for the PSCaP than for other groups ( $p < 0.001$ ). Histomorphologic analysis showed woven bone formation around all implant surfaces at 3 weeks, and its replacement by lamellar bone at 5 weeks. Time in vivo did not affect torque measures.

**Conclusion:** The PSCaP surface increased the early bone biomechanical fixation of plateau-root form implants.

**Keywords:** implant; surface; histology; biomechanical; in vivo.



## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>15</b>
<b>ARTIGO – Versão em Português .....</b>	<b>21</b>
<b>MANUSCRIPT – Versão em Inglês.....</b>	<b>37</b>
<b>BIBLIOGRAFIA CONSULTADA .....</b>	<b>45</b>



## INTRODUÇÃO

---

Osseointegração é definido como um fenômeno onde ocorre um íntimo contato entre uma superfície óssea e um biomaterial em nível de microscopia óptica. Este fenômeno permite a substituição de órgãos/dentes deficientes por implantes intra-ósseos restabelecendo a forma, função e estética<sup>1</sup>. A taxa de sucesso em implantodontia oral geralmente ultrapassa os 90% quando seguido o protocolo clássico de duas etapas, consagrado na literatura mundial a mais de 30 anos<sup>2-6</sup>. Isto faz desta técnica umas das mais previsíveis dentro da odontologia contemporânea<sup>7-9</sup>. Entretanto este protocolo estabelecido pelo grupo de pesquisadores suecos prevê um período de latência do implante de 4 a 6 meses para a obtenção da osseointegração<sup>7, 10</sup>. Neste período nenhuma carga mecânica deveria ser aplicada ao implante, sendo a restauração protética confeccionada apenas após esta etapa<sup>7, 8</sup>.

Devido a necessidades dos pacientes/profissionais, muitas alterações foram implementadas ao protocolo de osseointegração ao longo dos últimos anos. Com o intuito de se diminuir o período de latência do implante, surgiram modalidades como a carga imediata ou precoce, onde o implante entra em função logo após sua instalação ou dentro de um curto período de tempo. Encontram-se na literatura muitos resultados contraditórios com relação à carga precoce ou imediata<sup>8, 10-17</sup>. Fica evidente que ao invés de se utilizar estudos bem desenhados no âmbito in-vitro, in-vivo e finalmente ensaios clínicos, procurou-se apenas diminuir o período de osseointegração utilizando-se os mesmos sistemas de implantes já estabelecidos<sup>8, 10, 14, 18</sup>. Poucas alterações foram realizadas com relação ao desenho dos implantes, associações com outros biomateriais e variações de técnica cirúrgica.

As comparações in-vivo entre diferentes projetos de implantes geralmente apresentam um componente histomorfométrico e/ou biomecânico. A porção histomorfométrica do estudo avalia parâmetros estáticos, como a quantia de contato osso-implante (BIC), densidade óssea, quantidade e tipo do conteúdo celular, entre outros. Frequentemente menos utilizado, mas não menos valioso que as medidas estáticas, os parâmetros dinâmicos de histomorfometria como índice de aposição mineral (MAR) também são utilizados. O teste biomecânico normalmente avalia a força de tração<sup>19</sup>, compressão<sup>20</sup> ou torque até falha de interface<sup>21</sup> do implante.

Biocompatibilidade e osseocondutividade são respostas do organismo aos implantes que podem ser mensuradas através de medidas histomorfométricas e/ou hitomorfológicas<sup>22</sup>.

Os testes biomecânicos ex-vivo como o de remoção ao torque, tração e compressão<sup>1, 20, 23-25</sup>, medem a quantia de força para remover o implante do osso ou para que se tenha uma falha na interface osso/implante. Estes testes fornecem informações sobre o grau de fixação do biomaterial ao tecido ósseo, porém não apresentam informações microscópicas relativas às propriedades mecânicas da interface osso/biomaterial. Estes testes também tendem a valorizar as características de rugosidade da superfície dificultando a interpretação do real benefício desta nos processos de reparo e remodelamento ósseo ao seu redor.

Logo após a instalação do implante inicia-se uma série de eventos entre este e o tecido ósseo, desde a estabilização do coágulo sangüíneo, passando por todas as fases do processo inflamatório até a deposição e remodelamento ósseo ao seu redor<sup>26</sup>.

## MODIFICAÇÕES NA SUPERFÍCIE DO IMPLANTE

As alterações de superfície dos implantes dentários foram sem dúvida as mais estudadas recentemente, uma vez que esta é a primeira parte do implante a entrar em conato com o tecido ósseo. Tais alterações têm por objetivo melhorar a biocompatibilidade e a osseocondutividade ao longo do implante<sup>27</sup>. Basicamente as modificações de superfície podem ser divididas em topográficas, alterações na sua micro textura e químicas, através da incorporação de outras substâncias que não a mesma da composição do implante<sup>23, 28</sup>.

A primeira superfície desenvolvida, e certamente a mais estudada ao longo dos anos, foi a chamada usinada ou lisa. A superfície usinada foi por muitas décadas considerada a padrão ouro para osseointegração e é uma das poucas superfícies, que de um ponto de vista estatístico, apresenta-se bem embasada na literatura odontológica. É por este motivo que os novos projetos de superfície são comparados com a superfície usinada em investigações in-vitro, in-vivo e clínicas<sup>29</sup>. Entretanto, este processo de manufatura não produz uma superfície completamente lisa, mas sim com um padrão de rugosidade em torno de 0.5  $\mu\text{m}$   $R_a$ . Atualmente está estabelecido que superfícies com padrão de rugosidade entre 0,5 e 2  $\mu\text{m}$  alteram positivamente a resposta tecidual ao implante, mesmo que este mecanismo não esteja completamente elucidado<sup>15, 23, 28, 30-33</sup>. Butz et al (2006)<sup>31</sup> demonstrou que as



propriedades mecânicas do tecido ósseo ao redor de implantes com superfície tratadas são superiores quando comparado à superfícies usinadas. Por outro lado, rugosidade superior a 2  $\mu\text{m}$  não estão indicadas, pois podem aumentar as chances de contaminação bacteriana. Nestes casos o tratamento de possíveis periimplantites torna-se muito difícil podendo levar a perda completa da osseointegração.<sup>29</sup>

Dentre as técnicas de texturização de superfície com padrão entre 0,5 e 2  $\mu\text{m}$ , destacam-se o jateamento com micro partículas, o ataque ácido e a anodização.. Já a utilização do recobrimento por spray de plasma de titânio tem sido pouco utilizada, pois eleva a rugosidade a valores superiores aos 2  $\mu\text{m}$ .

Algumas superfícies mais atuais utilizam alterações químicas associadas ao processo de texturização que teoricamente melhorariam ainda mais a resposta tecidual. Uma dessas superfícies apresenta como produto do jateamento e ataque ácido a presença de partículas de flúor ao longo do implante. Este flúor seria benéfico no período inicial da osseointegração<sup>34</sup>.

Outra modificação química de superfície, chamada SLActive (Straumann, Basel, Suíça) consiste no armazenamento do implante com a superfície prévia SLA (Straumann, Basel, Suíça) imerso em solução salina<sup>30</sup>. Esta manobra diminui a quantidade de carbono, aumenta a camada de óxido de titânio e a propriedade hidrofílica junto aos fluídos corpóreos<sup>35</sup>. Comprovou-se que tal alteração acelera o processo de remodelamento ósseo inicial quando comparado a superfície antecessora<sup>30, 36, 37</sup>.

Pesquisas clínicas e básicas demonstram que implantes com recobrimento biocerâmicos quando comparados a implantes sem este recobrimento, apresentam valores maiores de osseocondutividade e fixação biomecânica nos momentos iniciais da osseointegração<sup>24, 33, 38-42</sup>. O recobrimento biocerâmico mais utilizado consiste no spray de plasma de hidroxiapatita com espessura de aproximadamente 50 nm. Mesmo apresentando excelente união entre osso/hidroxiapatita, apresenta um ponto fraco na união hidroxiapatita/implante, podendo gerar falhas de adesividade neste ponto<sup>24, 30, 33, 41</sup>.

Para contornar este problema aproveitando as características de biocompatibilidade das biocerâmicas, os engenheiros de biomateriais têm desenvolvido recobrimentos ou incorporação de partículas extremamente finas em escala nano métrica. Na tentativa de melhorar a osseocondutividade da superfície e evitar as limitações apresentadas pelo processo padrão de recobrimento com hidroxiapatita<sup>43</sup> recobrimentos substancialmente mais finos (variando de espessura

micrométrica para nanométrica) têm sido aplicados nas superfícies dos implantes<sup>25, 37, 44</sup>. As características desejáveis dos recobrimentos de fina espessura incluem controle da composição, espessura e melhora da adesão ao substrato metálico<sup>24, 25, 33, 38, 42, 45</sup>. O controle da composição e da espessura têm demonstrado influência na dissolução dos recobrimentos *in vivo*,<sup>24</sup> desta forma há um aumento significativo da osseocondutividade nos períodos iniciais após a inserção dos implantes. De qualquer forma, a rápida dissolução de finos filmes pode resultar na exposição do substrato metálico em pouco tempo após a instalação do implante. A possibilidade de íntimo contato entre osso e substrato metálico observado em microscopia óptica após a dissolução do recobrimento pode ser uma característica interessante dos finos recobrimentos. Este íntimo contato pode evitar uma interface entre osso, biocerâmica, camada de óxido e o substrato metálico, possivelmente assegurando condições favoráveis para a ancoragem a longo prazo do implante<sup>24, 25, 33</sup>.

## MODIFICAÇÕES NA FORMA DO IMPLANTE

Se por um lado foram realizadas muitas pesquisas para aumentar a osseocondutividade e a biocompatibilidade das superfícies dos implantes<sup>23, 28, 30, 31, 37</sup>, pouco se publicou com relação à resposta tecidual ao implante com variações de forma e protocolo cirúrgico de instalação<sup>37</sup>.

A grande maioria dos sistemas de implantes comercialmente disponíveis são rosqueáveis de forma cilíndrica ou cônica, onde a forma da rosca é responsável pela inserção e fixação biomecânica inicial. A forma do implante é responsável pela sua estabilidade inicial e distribuição de cargas. Adequada estabilidade inicial permite proliferação de osteoblastos junto ao implante prevenindo uma má união do tipo fibrosa.

As osteotomias para instalação destes implantes são obtidas pelo aumento gradual do diâmetro das fresas cirúrgicas até um diâmetro compatível com o diâmetro interno da rosca do implante. Isto permite que a extremidade das roscas tenha um embricamento direto com o osso adjacente, promovendo a estabilidade inicial. O coágulo sanguíneo que se estabelece ao longo do implante, na ausência de movimentação, gradativamente é substituído por um novo tecido ósseo<sup>26</sup>. Durante este processo parte deste osso comprimido pelas roscas do implante é reabsorvido e posteriormente remodelado através de uma ossificação aposicional<sup>26, 37</sup>. Por este motivo, durante o período de osseointegração

este tipo de implante não deve receber cargas excessivas, pois sua fixação biomecânica é diminuída neste período, para depois voltar a se fortalecer.

Alterações na macro-estrutura do implante promovem alterações no padrão de ossificação ao seu redor<sup>37</sup>.

Outro desenho de implante também muito utilizado, apresenta platôs ao invés de roscas, e é inserido na osteotomia através de compressão. Neste desenho o diâmetro da osteotomia é compatível com o diâmetro externo da extremidade do implante. Isto gera um espaço livre de contato entre o osso e a superfície interna do implante, formando uma câmara. Esta câmara é preenchida por um grande coágulo sanguíneo que é substituído por tecido ósseo através de ossificação intramembranosa<sup>30, 37</sup>. Devido a este padrão de ossificação o osso atinge um grau de maturidade maior mais rapidamente do que na ossificação aposicional<sup>1, 26, 30, 37</sup>. Entretanto este tipo de instrumentação exige maior destreza profissional para não se comprometer a estabilidade inicial do implante.

Os sistemas mais atuais têm apresentado uma forma híbrida entre roscas e platôs, associando-se a boa estabilidade inicial obtida pelas roscas ao padrão de ossificação intramembranoso através de superfícies livre de contato osso/implante. Tal situação se estabelece pela confecção de uma osteotomia levemente menor que o diâmetro externo da rosca do implante, porém maior que seu diâmetro interno.

Alguns estudos atuais chamam a atenção para o fato que o tipo de instrumentação utilizado na confecção da osteotomia também tem influência no padrão de remodelamento ósseo ao redor dos implantes. As osteotomias podem ser realizadas através de cinzéis, fresas em alta e baixa rotação e ainda mais recentemente através de preparos piezo elétricos. Preti et al (2007)<sup>46</sup> observou que a instrumentação piezo elétrica para instalação de implantes rosqueáveis apresentou menor processo inflamatório e maior atividade osteoblástica nos momentos iniciais da osseointegração quando comparada a fresagem tradicional.

Um dos principais motivos para as modificações da superfície dos implantes dentários é diminuir o tempo de osseointegração. Isto é importante tanto para pacientes quanto para os profissionais. Considerando que a superfície é a primeira parte que interage com o tecido ósseo, é natural que os estudos de superfície sejam extensamente realizados. A evolução da macro-estrutura dos implantes parece ser outro fator importante para minimizar o período de osseointegração antes da reabilitação protética.

Infelizmente, apesar do grande referencial literário produzido nas últimas décadas, a falta de seqüência hierárquica das pesquisas, causa dificuldades para isolar os parâmetros topográficos e químicos que promovam um melhor remodelamento ósseo ao redor dos implantes. O profissional se depara com uma grande variedade de produtos comerciais concorrentes, com diferentes tratamentos de superfície, forma e instrumentação. Desta forma, estudos clínicos, in-vivo e in-vitro bem desenhados devem ser realizados considerando diferentes superfícies, diferentes desenhos de implante e técnicas de instrumentação para melhor elucidar esta situação.

# **AValiação BIOMECÂNICA E HISTOMORFOLÓGICA DE IMPLANTES EM FORMA DE PLATÔS COM QUATRO SUPERFÍCIES DISTINTAS**

Este artigo esta formatado segundo as normas da revista Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology

## **Introdução**

O uso de implantes osseointegráveis em rebordos alveolares edêntulos é uma das modalidades de tratamento de maior previsibilidade na Odontologia, com taxas de sucesso acima de 90%<sup>1, 2</sup>. Entretanto, mesmo com esta elevada taxa de sucesso, clínicos e pesquisadores vêm se esforçando para diminuir o tempo de tratamento, reduzindo o período de reparo necessário para o estabelecimento da osseointegração<sup>3</sup>. Para isso, as manobras mais comuns se referem a modificações de diversos parâmetros na engenharia dos implantes<sup>4</sup>.

Estas alterações incluem mudanças na estrutura da matéria-prima<sup>5, 6</sup>, na macro-geometria e/ou instrumentação cirúrgica<sup>7-9</sup> e modificações de superfície<sup>3, 4, 10</sup>. Enquanto as alterações de geometria, instrumentação e superfícies têm demonstrado efeitos significativos nos períodos iniciais da osseointegração, o uso de outros materiais biocompatíveis, além do titânio e suas ligas, ainda não estão bem definidos<sup>3, 4, 7-11</sup>.

Com relação à macrogeometria e a instrumentação cirúrgica, tem-se estabelecido dois tipos distintos de reparo ósseo ao redor dos implantes para se adquirir a osseointegração<sup>7, 9</sup>. O primeiro, quando há um íntimo contato entre o tecido ósseo preparado e o implante rosqueável, com pouco espaço para o coágulo sanguíneo entre o implante e o osso, levando a uma substituição desta interface por um novo osso através da ossificação aposicional<sup>12</sup>. O segundo, quando devido à interação entre a geometria do implantes com a dimensão da osteotomia, são formadas câmaras de cicatrização (implantes em platôs), levando a formação de grandes coágulos sanguíneos que iniciam o processo de reparo através de ossificação intramembranosa logo após a instalação do implante<sup>7-9</sup>. Estudos histomorfométricos demonstram que as taxas de integração óssea nos períodos iniciais são similares<sup>9</sup>, e que a estabilidade em longo prazo é estabelecida por remodelamento ósseo<sup>12</sup>.

Dentre as alterações dos implantes, as modificações de superfície são de longe as mais investigadas<sup>3, 4, 10</sup>. Com o suporte de inúmeros estudos publicados demonstrando reparo ósseo mais rápido e maior fixação biomecânica<sup>3, 4, 10, 13-15</sup>, a produção comercial em larga escala migrou da superfície lisa ou usinada para moderadamente rugosa (ex. duplo ataque ácido, jateamento, anodização)<sup>4</sup>. Alterações químicas como a incorporação de hidroxiapatita à superfície do implante como um recobrimento, através de diferentes processos, também levaram a superfícies com melhores propriedades osseocondutivas<sup>16</sup>. Porém, seu comportamento clínico em longo prazo perdeu credibilidade devido a fraca interface entre o recobrimento e o substrato do implante, como os encontrados no spray de plasma de hidroxiapatita<sup>16</sup>. Recentemente, se obtiveram resultados promissores no uso de implantes com e sem a formação de câmaras de cicatrização, comparando-se superfícies moderadamente rugosas com outras também tratadas pela incorporação de biocerâmicas em escala nanométrica ou estrutural<sup>14, 11, 16-23</sup>. Contudo, nenhum estudo in vivo comparou superfícies lisas, moderadamente rugosas, de escala nanométrica e com recobrimento a base de spray de plasma de biocerâmica, em modelos de câmara de cicatrização.

O objetivo deste estudo foi avaliar a resposta óssea inicial (fixação biomecânica e histomorfologia) em implantes em forma de platôs que apresentavam quatro tipos diferentes de tratamentos de superfície.

## Materiais e Métodos

Este estudo utilizou implantes de Ti-6Al-4V em forma de platôs, com 3mm de diâmetro por 8mm de comprimento. Um hexágono externo foi especialmente confeccionado sobre a plataforma dos implantes para realização dos testes mecânicos (Figura 1a). Os grupos foram formados pelas seguintes superfícies: lisa (M), jateamento de alumina/ataque ácido (AB/AE) (Integra-Ti™, Bicon LLC, Boston, USA), AB/AE + recobrimento cerâmico nanométrico (NANO) (Nanotite™, Bicon LLC, Boston, USA) e spray de plasma de fosfato de cálcio (PSCaP) (Integra-CP™, Bicon LLC, Boston, USA) (Figuras 1b-e) (n=12 por superfície).

Após a aprovação pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Santa Catarina, foram selecionados 12 cães da raça Beagle, com idade acima de 1,5 anos em bom estado de saúde. Os animais foram divididos em dois grupos de seis e avaliados nos períodos de 3 e 5 semanas.

O sítio cirúrgico foi a região central do Rádio, e quatro implantes foram distribuídos ao longo do membro direito. Os implantes com as diferentes superfícies foram instalados de forma alternada de proximal para distal, respeitando-se uma distância de pelo menos 1cm entre cada um. A distribuição resultou em um número igual de implantes para 3 e 5 semanas de experimentação para cada superfície.

Todos os procedimentos cirúrgicos foram realizados sob anestesia geral. Para pré-anestesia utilizou-se administração intramuscular (IM) de sulfato de atropina (0.044mg/Kg) e cloridrato de xilasina (8mg/Kg). A anestesia geral foi obtida por injeção IM de cloridrato de ketamina (15mg/Kg).

O preparo do sítio cirúrgico incluiu tricotomia da área e antissepsia com solução de iodo. Então realizou-se uma incisão de aproximadamente 5cm, e um retalho total foi rebatido para se expor o tecido ósseo do rádio.

As quatro osteotomias foram realizadas de proximal para distal, numa distância de pelo menos 1 cm entre elas. A perfuração inicial foi realizada por uma broca piloto de 2mm em diâmetro à 1200 rpm, sob irrigação com solução salina. Sequencialmente, em baixa velocidade (800rpm), utilizou-se as fresas de 2,5mm e 3mm de diâmetro, também sob irrigação salina. Os implantes foram então pressionados para o interior das osteotomias. Um parafuso de cobertura também foi instalado em cada implante para evitar um possível crescimento ósseo sobre o implante e conseqüentemente danos a interface osso/implante no momento da remoção das peças. A sutura por planos incluiu o plano

muscular e a pele (vicryl 4.0- interno e nylon 4 e nylon 4.0- pele). Como medicação pós operatória foi utilizado antibióticos (penicilina, 20.000UI/Kg) e analgésicos (Ketoprofeno, 1ml/5Kg) por um período de 48 horas. A eutanásia foi realizada através de overdose anestésica após 3 e 5 semanas de experimento.

No momento na necropsia, as peças foram removidas através de uma dissecação delicada, todo tecido mole foi removido do osso, e os implantes analisados clinicamente quanto sua estabilidade. Se algum implante se encontrasse clinicamente instável, este seria excluído do estudo.

Para o teste biomecânico os blocos ósseos com os implantes foram adaptados a uma máquina de torque eletrônica equipada com uma célula de carga de 200N.cm (Test Resources, Minneapolis, USA). Uma ferramenta da máquina de torque foi adaptada ao hexágono externo dos implantes, e o bloco ósseo cuidadosamente posicionado para minimizar angulações durante o teste. Os implantes foram testados até que ocorresse uma fratura interfacial na proporção de aproximadamente 0.19618 radians/segundo, e uma curva de torque *versus* deslocamento foi obtida para cada espécime. A máquina foi programada para interromper a força quando uma queda de 10% da carga fosse identificada. O objetivo desta manobra foi minimizar os danos a interface osso/implante, importante para análise histológica<sup>16, 19</sup>.

Após os testes mecânicos os blocos ósseos foram mantidos em solução de formalina a 10% por 24 horas, lavados em água corrente por mais 24 horas, e gradativamente desidratados em soluções de álcool nas concentrações de etanol de 70-100%. Após a desidratação, as amostras foram embebidas em resina a base de metacrilato (Technovit 9100, Heraeus Kulzer GmbH, Wehrheim, Alemanha) de acordo com as instruções do fabricante. Utilizando-se de uma serra diamantada de precisão (Isomet 2000, Buehler Ltda., Lake Bluff, USA), os blocos foram então divididos em laminas (aproximadamente 300µm de espessura), tendo o centro dos implantes ao longo de seu longo eixo. As lâminas foram coladas a placas de acrílico com cola a base de acrilato, e deixadas para tomar presa por 24 horas antes de se iniciar o desgaste e polimento. A espessura final de aproximadamente 30µm foi atingida por meio de desgaste e polimento em uma politriz (Metaserv 3000, Buehler Ltda., Lake Bluff, USA), através de uma sequência de lixas abrasivas (400, 600, 800, 1200 e 2400) (Buehler Ltda., Lake Bluff, IL, USA) sob abundante irrigação. As secções foram coradas por Azul de Toluidina e avaliadas por microscopia ótica com magnificação de 50x-200x (Leica DM2500M, Leica Microsystems GmbH, Wetzlar, Alemanha).



Uma análise estatística preliminar demonstrou não haver efeitos na resistência ao torque devido à posição do implante (ex. nenhum efeito nas posições de 1 a 4 ao longo do rádio). Sendo assim, a posição do implante não foi mais considerada nas análises. O tratamento estatístico inicial das medidas de resistência ao torque primeiramente utilizou-se de um modelo conjugado de ANOVA, sendo um entre os fatores em questão (4 superfícies diferentes) e um modelo randomizado de observações dentro do mesmo grupo de animais. As análises demonstraram que a randomização foi desnecessária e, portanto excluída da análise final. A significância estatística foi indicada por valores de  $p < 5\%$ , e o teste post-hoc utilizado foi o Fisher LSD.

## **Resultados**

Os procedimentos cirúrgicos e pós-operatórios não apresentaram quaisquer complicações. Nenhum implante foi excluído do estudo por motivo de instabilidade clínica no momento da eutanásia.

Os resultados do torque para fratura interfacial (Tabela 1) demonstraram diferença significativa entre as superfícies ( $p < 0.001$ ). O valor médio do torque para fratura interfacial da superfície lisa foi 19.2 Ncm, e o teste post-hoc indicou não haver diferença estatística deste nível para as superfícies AB/AE e NANO. Entretanto, o torque para falha foi significativamente maior na superfície PSCaP quando comparado com todos os outros grupos ( $p < 0.05$ ) (Tabela 1). Aparentemente, não houve efeito do tempo de osseointegração ( $p > 0.32$ ) sobre os valores do torque para falha interfacial.

As amostras não descalcificadas processadas após os testes biomecânicos demonstraram íntimo contato ósseo com todas as superfícies dos implantes, tanto para osso cortical quanto medular. Em análise sob maior magnificação da região de interface osso/implante, observou-se uma mínima alteração da morfologia, decorrente do teste mecânico realizado (Figuras 2-5).

A ossificação intramembranosa foi o padrão de reparo tecidual observado para todos os grupos de implantes dentro dos platôs (Figuras 2-5) E a aposicional foi encontrada nas extremidades dos platôs, onde houve um contato direto do implante com o osso imediatamente após a inserção do implante (Figura 2a).

No geral, as câmaras de cicatrização (platôs) foram preenchidos por osso imaturo desorganizado em 3 semanas, que por remodelamento sofreram uma evolução microestrutural para todos os grupos em 5 semanas.(evidenciada pela coloração mais clara em regiões de osso

lamelar substituindo a coloração mais escura do osso imaturo entre os platôs). Contudo, foram observadas diferenças morfológicas temporais entre os grupos de superfícies.

Em 3 semanas, para o grupo M, ocorreu uma formação de osso imaturo principalmente na região central da câmara de cicatrização (Figura 2a), enquanto para todos os outros grupos esta formação óssea ocorreu tanto no centro da câmara, quanto em proximidade à superfície do implante (Figuras 3a, 4a e 5a). Também, enquanto se observaram várias estruturas osteônicas para as superfícies AB/AE, NANO e PSCaP em 3 semanas, para o grupo M, estas estruturas foram raramente encontradas.

Em 5 semanas, observou-se a substituição do osso imaturo por osso lamelar em todos os grupos (Figuras 2b, 3b, 4b e 5b). Não foram identificadas diferenças morfológicas qualitativas entre os grupos em 5 semanas de experimentação in vivo. O remodelamento do tecido ósseo imaturo dentro dos platôs de 3 para 5 semanas ocorreu para todos os grupos. Entretanto, para os grupos AB/AE, NANO e PSCaP, o remodelamento ocorreu tanto na porção central do platô quanto em intimo contato com a superfície dos implantes (Figuras 3b, 4b, e 5b), e no grupo M apenas na porção central do platô (Figura 2b).

Em geral, observou-se sob maior magnificação de microscopia do grupo PSCaP, a presença de uma interface entre o osso, o recobrimento PSCaP e o implante de titânio (Figura 6). Não foi observado a presença de um recobrimento para o grupo NANO, que teve a interface semelhante aos grupos M e AB/AE.

## Discussão

Enquanto se tem disponível uma grande quantidade de dados sobre o reparo ósseo ao redor de implantes rosqueáveis, pouco se encontra na literatura sobre os tipos de implantes nos quais o espaço entre o diâmetro interno do implante e as paredes da osteotomia formam uma câmara de cicatrização<sup>7,9</sup>.

Nos implantes rosqueáveis, onde o intimo contato entre a superfície do implante e a parede da osteotomia resulta em um alto grau de estabilidade primária, ocorre uma necrose óssea próxima a esta superfície antes que o remodelamento ósseo garanta esta fixação biomecânica<sup>7,9</sup>. Diferentemente, os implantes que formam câmaras de cicatrização têm menor estabilidade primária mas são rapidamente preenchidos por osso imaturo decorrentes da organização do coágulo sanguíneo formado imediatamente após a inserção do implante<sup>7,9,24</sup>.

Sendo assim, para se alterar a cinética do remodelamento ósseo na região dos platôs nos momentos iniciais da osseointegração, são necessárias mudanças na textura e química das superfícies.

Ao longo dos anos, as superfícies dos implantes vêm evoluindo da lisa para superfícies moderadamente rugosas mais osseocondutivas<sup>3, 4, 10, 13</sup>. No meio deste caminho, foram introduzidos os altamente osseocondutivos implantes recobertos por PSHA, mas falharam clinicamente devido a uma fraca interface entre o recobrimento e o implante<sup>4, 6, 8</sup>. Recentemente, desenvolveram-se técnicas de incorporação de partículas biocerâmicas de tamanho reduzido à superfície dos implantes, no intuito de se beneficiar tanto da rugosidade quanto das características da superfície similares aos recobrimentos de PSHA<sup>4, 11, 14, 16-19, 25</sup>.

Este estudo avaliou a resposta inicial do organismo a quatro diferentes superfícies comercialmente disponíveis em implantes em forma de platôs.

A literatura afirma que as superfícies lisas (M) apresentam um perfil minimamente rugoso com a presença de óxido de titânio<sup>10</sup>. Já uma avaliação de textura por microscopia de força atômica das outras três superfícies<sup>16</sup> analisadas neste estudo, demonstrou que o grupo PSCaP apresenta valores de Ra significativamente maiores que os grupos AB/AE e NANO. Respectivamente,  $1.8 \pm 0.25 \mu\text{m}$ ,  $0.48 \pm 0.10 \mu\text{m}$  e  $0.66 \pm 0.10 \mu\text{m}$ . A análise química também demonstrou que o grupo de superfície NANO apresenta um recobrimento de Ca/P amorfo de 300-500 nm de espessura, enquanto o grupo PSCaP possui um recobrimento de fase multicristalina de 20-30  $\mu\text{m}$  de espessura<sup>16</sup>.

Nossos resultados demonstraram que os implantes recobertos por PSCaP apresentaram torque para fratura interfacial significativamente maior que os implantes com superfícies M, AB/AE e NANO. Isto indica que a quantidade de Ca e P e sua estrutura química implicam em uma maior fixação biomecânica dos implantes com câmaras de cicatrização nos momentos iniciais da osseointegração. Devido à forma do implante, ao seu alinhamento com a máquina de torque e a baixa taxa de incremento de força, observou-se na análise histológica pós-torque um baixo grau de deslocamento entre o osso e o implante. A configuração geométrica dos implantes, sem retenções, apenas platôs puros, não gerou componente de forças verticais durante os testes mecânicos. Isto permitiu uma rotação livre sob o torque e uma precisa interrupção da máquina quando uma queda de 10% da máxima carga foi registrada. Assim, apenas em poucos espécimes foram identificado rupturas mecânicas nos cortes histológicos<sup>16, 18, 19</sup>.

Em uma observação geral das amostras histológicas, identificou-se que todos os grupos apresentaram íntimo contato osso/implante, demonstrando que todas as superfícies eram biocompatíveis e osseocondutivas. Ainda, independentemente da superfície, a sequência de reparo tecidual observada em nosso estudo foi semelhante à outras descritas para modelos de câmaras de cicatrização<sup>7, 9, 24</sup>, onde se estabelece a osseointegração com sucesso em implantes com superfície livre de contato com o tecido ósseo. Contudo, a avaliação qualitativa histomorfológica demonstrou melhor distribuição de reparo ósseo em superfícies rugosas (AB/AE, NANO e PSCaP) do que em superfície lisa (M). Pode-se imaginar que isto ocorra devido a uma menor capacidade da superfície lisa em reter o coágulo sanguíneo ao longo do tempo, quando comparado às outras superfícies<sup>10</sup>, alterando a cinética do reparo ósseo no interior da câmara.

Corroborando com estudos anteriores, maiores aumentos de microscopia do recobrimento PSCaP identificam remanescentes deste recobrimento<sup>16</sup>. Ainda, mesmo sem se identificar através de microscopia ótica a presença de um recobrimento no grupo NANO devido a sua diminuta espessura, o alto valor médio do torque para fratura interfacial em relação ao grupo AB/AE sugere não haver uma fraca união entre o recobrimento e o substrato metálico do implante<sup>16, 18, 19</sup>.

Devido à vasta literatura sobre os benefícios das mudanças topográficas e químicas das superfícies de implantes rosqueáveis e ao crescente número de estudos utilizando-se implantes que formam câmaras de cicatrização, as mudanças de superfície deveriam ser consideradas pelos clínicos principalmente nos cenários menos previsíveis como carga imediata ou precoce aos implantes. Mesmo com as modificações de superfície resultando em um remodelamento ósseo mais rápido e/ou melhores características biomecânicas em implantes rosqueáveis ou em platôs (ou sua combinação), sua racionalização ainda necessita de mais estudos futuros.

### Conclusão

O tratamento de superfície por PSCaP influenciou positivamente a fixação biomecânica em estágios iniciais de osseointegração para implantes em forma de platôs.

## Referências

- [1] Chuang SK, Tian L, Wei LJ, Dodson TB. Kaplan-Meier analysis of dental implant survival: a strategy for estimating survival with clustered observations. *J Dent Res* 2001;80:2016-20.
- [2] Chuang SK, Tian L, Wei LJ, Dodson TB. Predicting dental implant survival by use of the marginal approach of the semi-parametric survival methods for clustered observations. *J Dent Res* 2002;81:851-5.
- [3] Albrektsson T, Wennerberg A. Oral implant surfaces: Part 2--review focusing on clinical knowledge of different surfaces. *Int J Prosthodont* 2004;17:544-64.
- [4] Coelho PG, Granjeiro JM, Romanos GE, Suzuki M, Silva NR, Cardaropoli G, et al. Basic research methods and current trends of dental implant surfaces. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2009;88:579-96.
- [5] Bottino MC, Coelho PG, Henriques VA, Higa OZ, Bressiani AH, Bressiani JC. Processing, characterization, and in vitro/in vivo evaluations of powder metallurgy processed Ti-13Nb-13Zr alloys. *J Biomed Mater Res A* 2009;88:689-96.
- [6] Lemons J, Dietrich-Misch F. Biomaterials for Dental Implants. In: CE M, editor. *Contemporary Implant Dentistry*. Saint Louis: Mosby, Inc; 1999. p. 271-302.
- [7] Berglundh T, Abrahamsson I, Lang NP, Lindhe J. De novo alveolar bone formation adjacent to endosseous implants. *Clin Oral Implants Res* 2003;14:251-62.
- [8] Lemons JE. Biomaterials, biomechanics, tissue healing, and immediate-function dental implants. *J Oral Implantol* 2004;30:318-24.
- [9] Leonard G, Coelho PG, Polyzois I, N C. A study of the bone healing kinetics of plateau versus screw root design titanium dental implants. *Clin Oral Impl Res* 2009;20:232-9.
- [10] Albrektsson T, Wennerberg A. Oral implant surfaces: Part 1--review focusing on topographic and chemical properties of different surfaces and in vivo responses to them. *Int J Prosthodont* 2004;17:536-43.
- [11] Marin C, Granato R, Suzuki M, Gil JN, Piattelli A, Coelho PG. Removal torque and histomorphometric evaluation of bioceramic grit-blasted/acid-etched and dual acid-etched implant surfaces: an experimental study in dogs. *J Periodontol* 2008;79:1942-9.
- [12] Davies JE. Understanding peri-implant endosseous healing. *J Dent Educ* 2003;67:932-49.

- [13] Butz F, Aita H, Wang CJ, Ogawa T. Harder and stiffer bone osseointegrated to roughened titanium. *J Dent Res* 2006;85:560-5.
- [14] Ogawa T, Ozawa S, Shih JH, Ryu KH, Sukotjo C, Yang JM, et al. Biomechanical evaluation of osseous implants having different surface topographies in rats. *J Dent Res* 2000;79:1857-63.
- [15] Yang Y, Kim KH, Ong JL. A review on calcium phosphate coatings produced using a sputtering process--an alternative to plasma spraying. *Biomaterials* 2005;26:327-37.
- [16] Coelho PG, Lemons JE. Physico/chemical characterization and in vivo evaluation of nanothickness bioceramic depositions on alumina-blasted/acid-etched Ti-6Al-4V implant surfaces. *J Biomed Mater Res A* 2008.
- [17] Coelho PG, Cardaropoli G, Suzuki M, Lemons JE. Histomorphometric Evaluation of a Nanothickness Bioceramic Deposition on Endosseous Implants: A Study in Dogs. *Clin Implant Dent Relat Res* 2008.
- [18] Coelho PG, Cardaropoli G, Suzuki M, Lemons JE. Early healing of nanothickness bioceramic coatings on dental implants. An experimental study in dogs. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2009;88:387-93.
- [19] Granato R, Marin C, Suzuki M, Gil JN, Janal MN, Coelho PG. Biomechanical and histomorphometric evaluation of a thin ion beam bioceramic deposition on plateau root form implants: An experimental study in dogs. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2008.
- [20] Mendes VC, Moineddin R, Davies JE. Discrete calcium phosphate nanocrystalline deposition enhances osteoconduction on titanium-based implant surfaces. *J Biomed Mater Res A* 2008.
- [21] Orsini G, Piatelli M, Scarano A, Petrone G, Kenealy J, Piatelli A, et al. Randomized, controlled histologic and histomorphometric evaluation of implants with nanometer-scale calcium phosphate added to the dual acid-etched surface in the human posterior maxilla. *J Periodontol* 2006;77:1984-90.
- [22] Park YS, Yi KY, Lee IS, Han CH, Jung YC. The effects of ion beam-assisted deposition of hydroxyapatite on the grit-blasted surface of endosseous implants in rabbit tibiae. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2005;20:31-8.
- [23] Suzuki K, Aoki K, Ohya K. Effects of surface roughness of titanium implants on bone remodeling activity of femur in rabbits. *Bone* 1997;21:507-14.
- [24] Coelho PG, Suzuki M, Guimaraes MV, Marin C, Granato R, Gil JN, et al. Early Bone Healing around Different Implant Bulk

Designs and Surgical Techniques: A Study in Dogs. Clin Implant Dent Relat Res 2009.

[25] Mendes VC, Moineddin R, Davies JE. The effect of discrete calcium phosphate nanocrystals on bone-bonding to titanium surfaces. Biomaterials 2007.

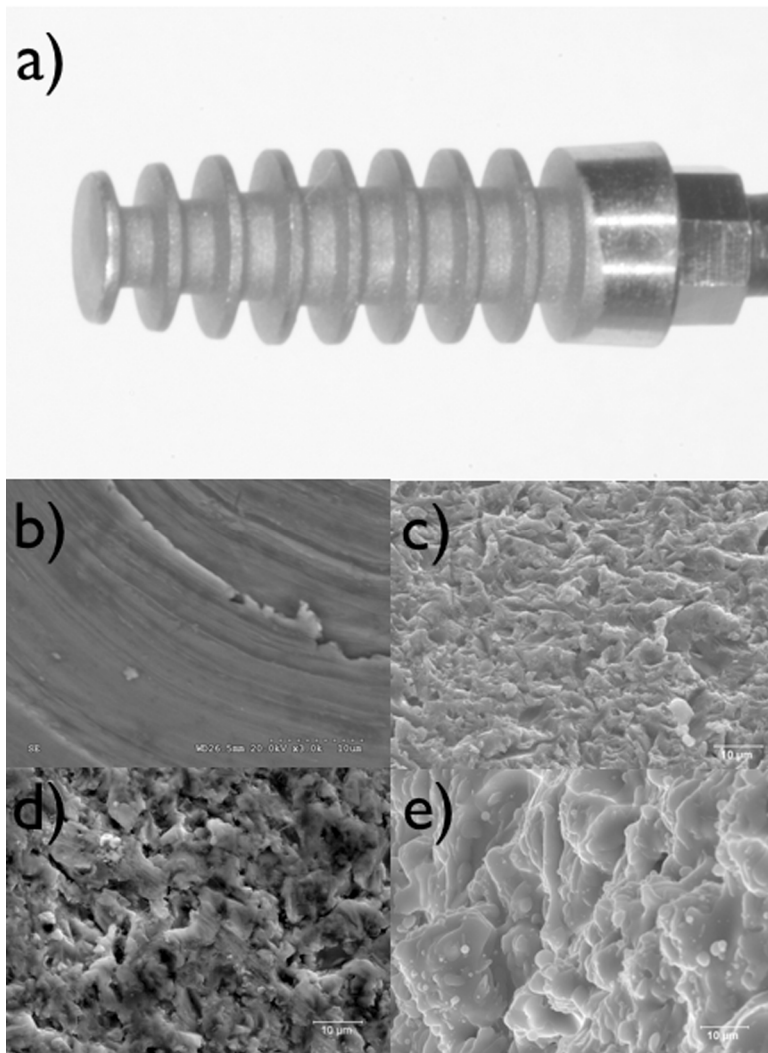
**Lista de Figuras**

Figura 1: (a) Implante de Ti-6AL-4V em forma de platôs com 3mm de diâmetro por 8mm de comprimento. Microscopia eletrônica de varredura para diferentes superfícies (b) lisa(M), (c) jateamento de alumina/ataque ácido (AB/AE), (d) recobrimento cerâmico nanométrico (NANO), e (e) spray de plasma de fosfato de cálcio (PSCaP)



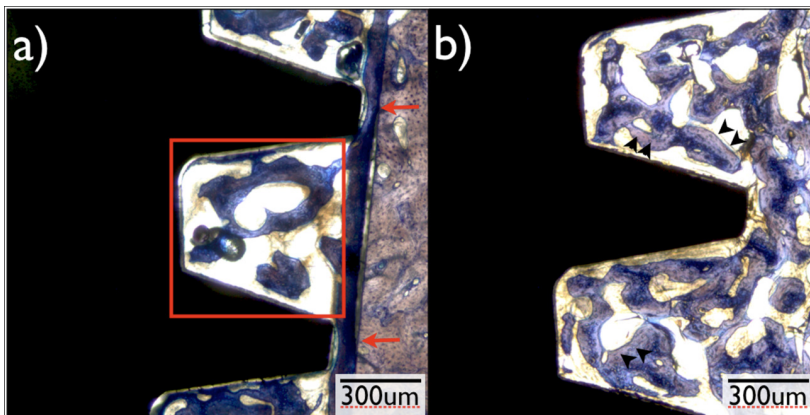


Figura 2: Microscopia ótica em 40x de aumento do grupo com superfície lisa (M) em 3 semanas (a) e 5 semanas (b) in vivo. Observar a presença de osso imaturo em formação intramembranosa para 3 semanas (quadro) e aposicional na extremidade do platô em contato com a parede óssea (setas vermelhas). Índícios de organização óssea microestrutural em 5 semanas, sugestivo de organizações osteônicas primárias (setas pretas). Coloração em Azul de Toluidina.

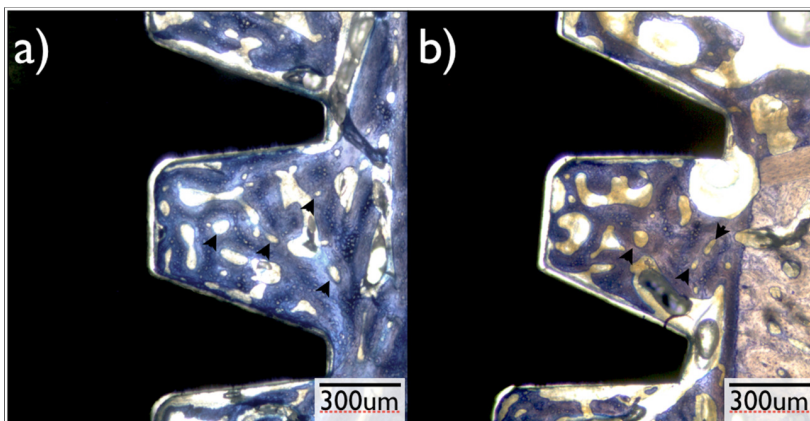


Figura 3: Microscopia ótica em 40x de aumento do grupo (AB/AE) em 3 semanas (a) e 5 semanas (b) in vivo. Notar a presença de múltiplas estruturas sugestivas de organizações osteônicas primárias (setas pretas), mesmo para período de 3 semanas. Coloração em Azul de Toluidina.

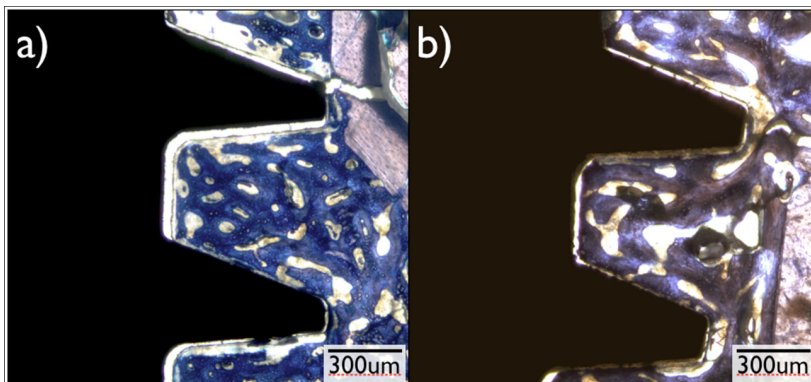


Figura 4: Microscopia ótica em 40x de aumento do grupo (NANO) em 3 semanas (a) e 5 semanas (b) in vivo. Formação óssea ocorrendo tanto no centro do platô como na proximidade da superfície do implante. Coloração em Azul de Toluidina.

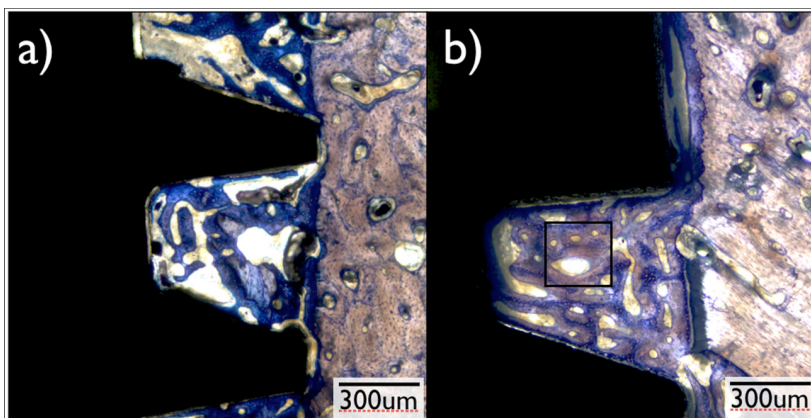


Figura 5: Microscopia ótica em 40x de aumento do grupo (PSCaP) em 3 semanas (a) e 5 semanas (b) in vivo. Atentar para maior remodelamento ósseo em 5 semanas, evidenciada pela coloração mais clara em regiões de osso lamelar substituindo a coloração mais escura do osso imaturo entre os platôs (quadro). Coloração em Azul de Toluidina.

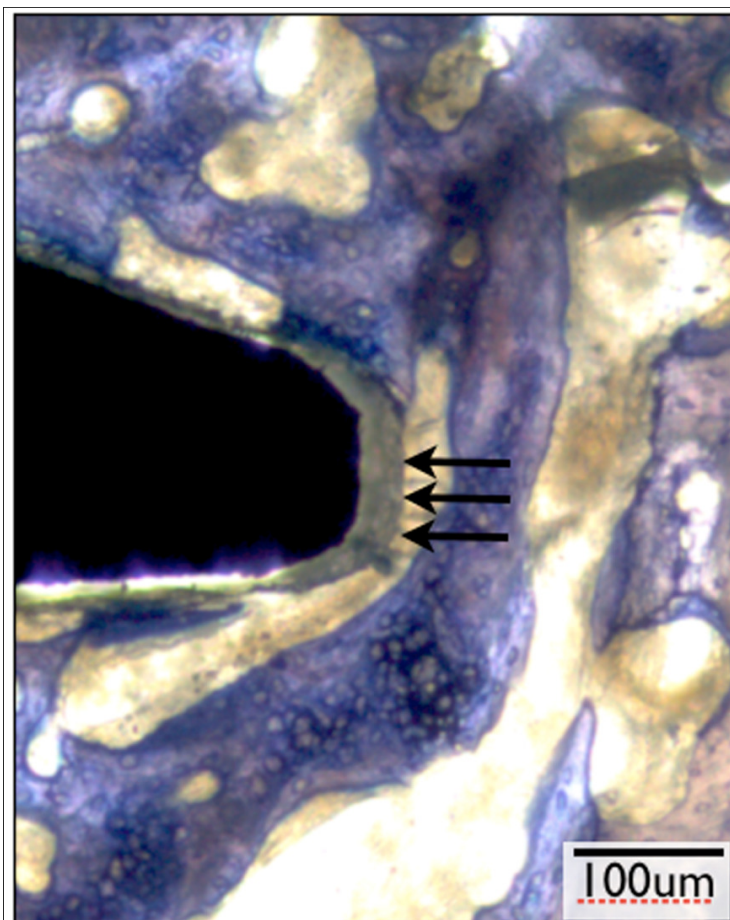


Figura 6: Presença do recobrimento de PSCaP entre o osso e o substrato metálico do implante (setas pretas), encontrado para ambos períodos in vivo. Coloração em Azul de Toluidina.

Superfície	Média	Desv. Padrão	95% Intervalo Confiança Limite inferior	95% Intervalo Confiança Limite superior
AB/AE	23.07 <sup>b</sup>	2.858	17.27	28.88
M	19.2 <sup>b</sup>	2.858	13.39	25.00
Nano	27.4 <sup>b</sup>	2.858	21.58	33.19
PSCaP	49.22 <sup>a</sup>	2.858	43.15	55.28

Tabela 1: Resumo dos resultados do teste biomecânico.

## **BIOMECHANICAL AND HISTOMORPHOLOGIC EVALUATION OF FOUR SURFACES ON PLATEAU ROOT FORM IMPLANTS**

### **Introduction**

The utilization of endosseous implants in the jaws has resulted in one of the most successful treatment modalities in dentistry, with success rates often reported higher than 90%<sup>1, 2</sup>. However, despite the high success rates reported, basic scientists and clinicians have attempted to decrease treatment time frames by reducing the healing period for establishment of osseointegration<sup>3</sup>. For that purpose, the most common approach is through modification of different implant design parameters<sup>4</sup>.

Implant design alterations have included changes in its structural material<sup>5, 6</sup>, its macrogeometry and/or surgical instrumentation<sup>7-9</sup>, and surface modifications<sup>3, 4, 10</sup>. While it is not well defined whether biocompatible materials other than titanium and its alloys improve the host-to-implant response, alterations in macrogeometry and/or surgical instrumentation and surface modifications have demonstrated significant effects at the early stages of bone healing around endosseous implants<sup>3, 4, 7-11</sup>.

Regarding implant macrodesign and surgical instrumentation, two basic different bone healing pathways leading to implant integration with the bone tissue have been established<sup>7, 9</sup>. The first, where intimate surgical fit between bone and screw root form (SRF) implant results in the formation of a blood clot at the region between bone and implant surface, which is subsequently substituted by new bone<sup>12</sup>. The second, where healing chambers develop due to the interplay between implant design and drilling dimensions (i.e. plateau root form implants, PRF), leads to an intramembranous-like woven bone formation at large void spaces occupied by the blood clot immediately after implantation<sup>7-9</sup>. Regardless of healing pathway, histomorphometric studies have shown that integration rates are comparable at the early healing stages<sup>9</sup> and the long-term stability is assured by bone modeling and remodeling processes<sup>12</sup>.

Among implant design changes, surface modifications have been by far the most investigated<sup>3, 4, 10</sup>. Supported by a number of studies showing positive early healing modulation and higher biomechanical fixation<sup>3, 4, 10, 13-15</sup>, large scale production of implant surfaces has shifted from as-turned to moderately rough surfaces (i.e. dual acid etched, grit-blasted, anodized)<sup>4</sup>. Chemistry modifications such as the incorporation of hydroxyapatite as surface coatings through a variety of processes have also led to highly osteoconductive surfaces<sup>16</sup>. However, weak interfaces between coating and implant substrate such as those found in plasma sprayed hydroxyapatite (PSHA) raised concerns with respect to their long-term clinical performance<sup>16</sup>. Recently, the synergism between surface roughness and the incorporation of bioceramics in the nanometer or elemental chemistry length scales have shown promising results when compared to moderately rough surfaces in scenarios with and without healing chamber development around implants after implantation<sup>4, 11, 16-23</sup>. However, to date no *in vivo* study providing a comparison between as-turned, moderately rough, nanometer scale- and plasma sprayed bioceramic-coated surfaces in healing chamber models is available.

The objective of this study was to evaluate the early bone response (biomechanical fixation and histomorphology) to plateau root form implants presenting four different surface treatments.

## **Materials and Methods**

This study utilized plateau root form endosseous Ti-6Al-4V implants of 3 mm in diameter by 8 mm in length. For mechanical testing

purposes, an external hexagon was machined on the top of the implants for subsequent torque testing (Figure 1a).

The implant groups included the following surfaces: as-machined (M), alumina-blasted/acid-etched (AB/AE) (Integra-Ti<sup>TM</sup>, Bicon LLC, Boston, USA), AB/AE + nanothickness bioceramic coated (Nano) (Nanotite<sup>TM</sup>, Bicon LLC, Boston, USA) and plasma sprayed calcium-phosphate (PSCaP) (Integra-CP<sup>TM</sup>, Bicon LLC, Boston, USA) implants (Figure 1b-e) (n=12 for each surface).

Following approval of the bioethics committee for animal experimentation at the Universidade Federal de Santa Catarina, Brazil, 12 male beagle dogs with ~1.5 years of age in good health were acquired for the study. The animals were split into 2 groups of 6 animals each, evaluated at 3 and 5 weeks.

The surgical region was the central region of the radius diaphysis, and four implants were placed along the right limb. The different implant surfaces were alternately placed from proximal to distal at distances of 1 cm from each other along the central region of the bone, and the start surface site was alternated between animals. The implant distribution resulted in an equal number of implants for the 3- and 5-week comparison for the various surfaces.

All surgical procedures were performed under general anesthesia. The pre anesthetic procedure comprised an intra-muscular (IM) administration of atropine sulfate (0.044mg/Kg) and xylasin chlorate (8mg/Kg). General anesthesia was then obtained following an IM injection of ketamine chlorate (15mg/Kg).

Following hair shaving, skin exposure, and antiseptic cleaning with iodine solution at the surgical and surrounding area, a 5 cm incision at the skin level was performed. Then, a flap was reflected and the humerus diaphysis exposed.

Four osteotomies were produced at least 10 mm from each other from proximal to distal. The initial drilling was performed by a 2 mm diameter pilot drill at 1200 rpm under saline irrigation. Then, slow speed sequential drilling with burs of 2.5 mm and 3.0 mm was performed at 800 rpm under saline irrigation. The implants were then press fit into the osteotomy sites by manual pressure. In order to avoid any damage to the implant-bone interface due to removal of a callus overgrowth after limb retrieval, a customized cover screw was installed in each implant. Standard layered suture techniques were utilized for wound closure (4-0 vicryl- internal layers, 4-0 nylon- the skin). Post-surgical medication included antibiotics (penicillin, 20.000UI/Kg) and analgesics

(ketoprophen, 1ml/5Kg) for a period of 48 hours post-operatively. The euthanasia was performed by anesthesia overdose after 3 and 5 weeks.

At necropsy, the limbs were retrieved by sharp dissection, the soft tissue was removed by surgical blades, and initial clinical evaluation was performed to determine implant stability. If an implant was clinically unstable, it was excluded from the study.

For biomechanical testing, the bone blocks with implants were adapted to an electronic torque machine equipped with a 200 N.cm torque load cell (Test Resources, Minneapolis, USA). Custom machined tooling was adapted to the implants' external hexagons and the retrieved bone was carefully positioned to minimize angulation during testing. The implants were torqued to interfacial fracture at a rate of  $\sim 0.19618$  radians/sec, and a torque versus displacement curve was recorded for each specimen. The torque machine was set to automatically stop when a torque drop of 10% from the highest load was detected. The rationale for this procedure was to minimise interface damage prior to histologic procedures<sup>16, 19</sup>.

Following biomechanical testing, the bone blocks were kept in 10% buffered formalin solution for 24h, washed in running water for 24h, and gradually dehydrated in a series of alcohol solutions ranging from 70-100% ethanol. Following dehydration, the samples were embedded in a methacrylate-based resin (Technovit 9100, Heraeus Kulzer GmbH, Wehrheim, Germany) according to the manufacturer's instructions. The blocks were then cut into slices ( $\sim 300$   $\mu\text{m}$  thickness) aiming the center of the implant along its long axis with a precision diamond saw (Isomet 2000, Buehler Ltd., Lake Bluff, USA), glued to acrylic plates with an acrylate-based cement, and a 24h setting time was allowed prior to grinding and polishing. The sections were then reduced to a final thickness of  $\sim 30$   $\mu\text{m}$  by means of a series of SiC abrasive papers (400, 600, 800, 1200 and 2400) (Buehler Ltd., Lake Bluff, IL, USA) in a grinding/polishing machine (Metaserv 3000, Buehler Ltd., Lake Bluff, USA) under water irrigation. The sections were then toluidine blue stained and referred to optical microscopy evaluation. The histologic features were evaluated at 50X-200X magnification (Leica DM2500M, Leica Microsystems GmbH, Wetzlar, Germany).

Preliminary statistical analyses showed no effect of implant site (i.e., there were no consistent effects of positions 1 to 4 along the radius) on torque. Therefore, site was not considered further in the analysis. Further statistical evaluation of torque measures first employed a mixed-model ANOVA with one between subjects factor (4 levels of implant surfaces) and a random intercept to model potential dependencies



arising from repeated observations within the same animals. Analysis showed that the random intercept term was unnecessary, and final analyses do not include a random intercept term. Statistical significance was indicated by p-levels less than 5%, and post-hoc testing employed the Fisher LSD test.

## Results

The surgical procedures and follow-up demonstrated no complications regarding procedural conditions, post-operative infection, or other clinical concerns. No implants were excluded from the study due to clinical instability immediately after the euthanization.

The torque to interface fracture results (Table 1) showed significant differences among the surface treatments ( $p < 0.001$ ). The mean torque to interface fracture of the as-machined surface was 19.2 Ncm, and post-hoc testing indicated that there was no statistical change from this level in the AB/AE and Nano surfaces. However, torque to failure was significantly increased in the PSCaP surface when compared to all other groups ( $p < .05$ ) (Table 1). There was no apparent effect of implantation time ( $p > 0.32$ ) on measures of torque to failure.

The nondecalcified sample processing after controlled torque testing showed intimate bone contact with all implant surfaces at regions of cortical and trabecular bone. Higher magnification of the bone-implant interface region showed that the nondecalcified sections obtained following biomechanical testing presented minimal morphologic distortion due to mechanical testing bone disruption (Figures 2-5).

The wound healing pattern observed for all groups between the implant plateaus followed the intramembranous-type healing mode (Figures 2-5), and appositional bone healing was observed at the plateau tips where direct contact existed between implant and bone immediately after placement (Figure 2a).

In general, the healing chambers were filled with woven bone at 3 weeks, and bone microstructural evolution with onset of remodeling occurred for all groups at 5 weeks (evidenced by the lighter staining at regions of lamellar bone replacing the darker stained woven bone between plateaus). However, temporal morphologic differences were observed between surface groups.

At 3 weeks, woven bone formation occurred primarily at the central region of the healing chamber for the M surface group (Figure 2a), whereas woven bone formation occurred at both central regions and

at regions in close proximity to the implant surface for all other groups (Figures 3a, 4a, and 5a). Also, while multiple primary osteonic structures were observed for the AB/AE, Nano, and PSCaP surfaces at 3 weeks, such bone structural feature was seldomly observed for the M group.

At 5 weeks, replacement of woven bone by lamellar bone was observed for all groups (Figures 2b, 3b, 4b, and 5b). No qualitative morphologic differences were observed among the different implant surface groups at 5 weeks in vivo. However, remodeling occurred at regions where woven bone was distributed within the healing chambers at 3 weeks for the different groups, where the AB/AE, Nano, and PSCaP groups presented woven bone replacement at both central regions and regions in close proximity with the implant surface (Figures 3b, 4b, and 5b), and the M group showed woven bone replacement at the central region of the healing chamber (Figure 2b). General high magnification light microscopy of the bone-implant interface showed evidence of an interface between bone, PSCaP coating, and implant substrate (Figure 6). No evidence of the presence of a coating was observed for the Nano group, which resembled the interface observed between bone and M and AB/AE surfaces.

## Discussion

While a large database addressing the bone healing around screw type implants is available, a substantially smaller body of literature has focused on endosseous implant designs where spaces between the implant inner diameter and osteotomy walls result in the development of healing chambers<sup>7,9</sup>.

The bone around SRF implants, where the intimate contact between the osteotomy wall and the implant surface results in high degrees of primary stability, undergoes localized bone necrosis near the implant surface before bone apposition ensures its biomechanical fixation<sup>7,9</sup>. Different from SRF implants, healing chambers provide little primary stability but have been shown to be rapidly filled with woven bone throughout the volume occupied by the blood clot immediately after placement for osseointegration achievement<sup>7,9,24</sup>. Thus, changes in surface texture and chemistry are likely to change the bone healing kinetics at the chamber region at early implantation times.

Throughout the years, endosseous implant surfaces have evolved from as-machined to the more osteoconductive moderately rough surfaces<sup>3, 4, 10, 13</sup>. In the meantime, the highly osteoconductive PSHA-

coated implants were also introduced, but fell from favor in clinical practice due to the potential development of a weak interface between coating and implant substrate<sup>4, 6, 8</sup>. In an attempt to benefit from both surface roughness presented by moderately rough surfaces and chemistry similar to PSHA-coated implants, the incorporation of bioceramics in smaller domains have been recently developed<sup>4, 11, 14, 16-19, 25</sup>. This study evaluated the early host response to four different commercially available implant surfaces in plateau root form implants.

While the literature supports that as-machined surfaces (M) present titanium oxides in their surfaces and a smooth roughness profile<sup>10</sup>, atomic force microscopy based texture analysis of the other three surfaces<sup>16</sup> investigated in the present study has shown that the PSCaP presented significantly higher Sa values compared to the AB/AE and Nano surfaces at  $1.8 \pm 0.25 \mu\text{m}$ ,  $0.48 \pm 0.10 \mu\text{m}$ , and  $0.66 \pm 0.10 \mu\text{m}$ , respectively. Chemical analysis also showed that the Nano group surface presented a 300-500nm thickness, high Ca/P stoichiometry, amorphous coating, while the PSCaP surface presented a Ca- and P-based multicrystalline phase 20-30  $\mu\text{m}$  thickness coating<sup>16</sup>.

Our results showed that the PSCaP coated implants presented significantly higher torque to interface fracture values than M, AB/AE, and Nano surfaces, indicating that the amount of Ca and P and its chemical structure played a significant role in the biomechanical fixation of endosseous implants presenting healing chambers at the early implantation times. The low degree of mechanical disruption between bone and implant observed in the histology slides following mechanical testing was likely due to the implant shape along with proper specimen alignment and the slow torque rate. The implant geometric configuration, where no vertical force component resulted during testing due to the implant bulk configuration without retention features (pure plateaus), allowed free rotation under torque and precise stopping of the machine at 10% drop of the maximum load recorded<sup>16, 18, 19</sup>. Thus, mechanical disruption was observed only in a few histologic sections<sup>16, 18, 19</sup> and did not compromise the qualitative histomorphologic evaluations.

General observation of the histologic sections showed that the specimens from all groups showed intimate bone contact to the implant irrespective of implant surface, demonstrating that all surfaces were biocompatible and osteoconductive. Also irrespective of surface, the wound healing sequence and mode observed in our study was comparable to the previously described wound healing sequence for healing chamber models<sup>7, 9, 24</sup>, where osseointegration was successfully

established in implants presenting large contact-free surfaces. However, qualitative histomorphologic evaluation showed a more even distribution of woven bone (at both central and peripheral regions of the healing chambers) for the rough surfaces (AB/AE, Nano, and PSCaP) compared to the as-machined surface. We speculate that such observation was due to the as-machined surface decreased ability of uniformly retaining the blood clot over time compared to the other surfaces<sup>10</sup>, potentially changing the bone location and healing kinetics within the chamber.

In agreement with previous studies, higher magnification of the PSCaP-coated surface and bone revealed the presence of coating remains<sup>16</sup>. Also, despite the fact that the determination of the coating presence in the Nano group can not be evaluated through optical microscopy resolution due to the reduced coating thickness, the higher mean torque to interfacial fracture values compared to the AB/AE group suggest that no weak link existed between coating and metallic substrate<sup>16, 18, 19</sup>.

The large number of studies in the literature reporting the benefits of surface topographical and chemical modifications around screw type implants and the increasing body of literature depicting benefits of surface modification in endosseous implants presenting healing chambers demonstrate that surface modifications should be taken into account by clinicians when early implant loading is considered. However, whether the same surface modification will result in faster bone response and/or biomechanical stabilization of endosseous implant designs with or without healing chambers, or a combination of both for future implant design warrants further investigation.

## **Conclusion**

The PSCaP surface treatment positively influenced the early bone biomechanical fixation of plateau root form implants.

## BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

---

1. Albrektsson, T., et al., Osseointegrated titanium implants. Requirements for ensuring a long-lasting, direct bone-to-implant anchorage in man. *Acta Orthop Scand*, 1981. **52**(2): p. 155-70.
2. Chuang, S.K., et al., Kaplan-Meier analysis of dental implant survival: a strategy for estimating survival with clustered observations. *J Dent Res*, 2001. **80**(11): p. 2016-20.
3. Chuang, S.K., et al., Predicting dental implant survival by use of the marginal approach of the semi-parametric survival methods for clustered observations. *J Dent Res*, 2002. **81**(12): p. 851-5.
4. Branemark, P.I., et al., Intra-osseous anchorage of dental prostheses. I. Experimental studies. *Scand J Plast Reconstr Surg*, 1969. **3**(2): p. 81-100.
5. Adell, R., et al., Intra-osseous anchorage of dental prostheses. II. Review of clinical approaches. *Scand J Plast Reconstr Surg*, 1970. **4**(1): p. 19-34.
6. Henry, P.J., et al., Osseointegrated implants for single-tooth replacement: a prospective 5-year multicenter study. *Int J Oral Maxillofac Implants*, 1996. **11**(4): p. 450-5.
7. Branemark, P.I., et al., Osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. Experience from a 10-year period. *Scand J Plast Reconstr Surg Suppl*, 1977. **16**: p. 1-132.
8. Jemt, T., et al., A 5-year prospective multicenter follow-up report on overdentures supported by osseointegrated implants. *Int J Oral Maxillofac Implants*, 1996. **11**(3): p. 291-8.
9. van Steenberghe, D., et al., Applicability of osseointegrated oral implants in the rehabilitation of partial edentulism: a prospective multicenter study on 558 fixtures. *Int J Oral Maxillofac Implants*, 1990. **5**(3): p. 272-81.
10. Branemark, P.I., et al., Branemark Novum: a new treatment concept for rehabilitation of the edentulous mandible. Preliminary results from a prospective clinical follow-up study. *Clin Implant Dent Relat Res*, 1999. **1**(1): p. 2-16.

11. Chiapasco, M., et al., Implant-retained mandibular overdentures with immediate loading. A retrospective multicenter study on 226 consecutive cases. *Clin Oral Implants Res*, 1997. **8**(1): p. 48-57.
12. Chiapasco, M. and C. Gatti, Implant-retained mandibular overdentures with immediate loading: a 3- to 8-year prospective study on 328 implants. *Clin Implant Dent Relat Res*, 2003. **5**(1): p. 29-38.
13. Chiapasco, M. and C. Gatti, Immediate loading of dental implants placed in revascularized fibula free flaps: a clinical report on 2 consecutive patients. *Int J Oral Maxillofac Implants*, 2004. **19**(6): p. 906-12.
14. Chiapasco, M., C. Gatti, and F. Gatti, Immediate loading of dental implants placed in severely resorbed edentulous mandibles reconstructed with autogenous calvarial grafts. *Clin Oral Implants Res*, 2007. **18**(1): p. 13-20.
15. Testori, T., et al., Immediate occlusal loading of Osseotite implants in the completely edentulous mandible. *Int J Oral Maxillofac Implants*, 2003. **18**(4): p. 544-51.
16. Gatti, C. and M. Chiapasco, Immediate loading of Branemark implants: a 24-month follow-up of a comparative prospective pilot study between mandibular overdentures supported by Conical transmucosal and standard MK II implants. *Clin Implant Dent Relat Res*, 2002. **4**(4): p. 190-9.
17. Gatti, C., W. Haeffliger, and M. Chiapasco, Implant-retained mandibular overdentures with immediate loading: a prospective study of ITI implants. *Int J Oral Maxillofac Implants*, 2000. **15**(3): p. 383-8.
18. De Bruyn, H., et al., Fixed mandibular restorations on three early-loaded regular platform Branemark implants. *Clin Implant Dent Relat Res*, 2001. **3**(4): p. 176-84.
19. Ogawa, T., et al., Biomechanical evaluation of osseous implants having different surface topographies in rats. *J Dent Res*, 2000. **79**(11): p. 1857-63.
20. deGroot K, K.C., Wolke JGC, deBieck-Hogervorst JM., Plasma-sprayed coating of calcium phosphate, in *Handbook of Bioactive ceramics*, vol II, Calcium phosphate and Hydroxyapatite ceramics, H.L. Yamamuro T, Wilson J Editor. 1990, CRC Press: Boca Raton. p. 17-25.

21. Seybold, E.A., et al., Characteristics of unicortical and bicortical lateral mass screws in the cervical spine. *Spine*, 1999. **24**(22): p. 2397-403.
22. Klokkevold, P.R., et al., Osseointegration enhanced by chemical etching of the titanium surface. A torque removal study in the rabbit. *Clin Oral Implants Res*, 1997. **8**(6): p. 442-7.
23. Albrektsson, T. and A. Wennerberg, Oral implant surfaces: Part 1--review focusing on topographic and chemical properties of different surfaces and in vivo responses to them. *Int J Prosthodont*, 2004. **17**(5): p. 536-43.
24. Yang, Y., K.H. Kim, and J.L. Ong, A review on calcium phosphate coatings produced using a sputtering process--an alternative to plasma spraying. *Biomaterials*, 2005. **26**(3): p. 327-37.
25. Grizon, F., et al., Enhanced bone integration of implants with increased surface roughness: a long term study in the sheep. *J Dent*, 2002. **30**(5-6): p. 195-203.
26. Davies, J.E., Understanding peri-implant endosseous healing. *J Dent Educ*, 2003. **67**(8): p. 932-49.
27. Lemons, J.E., Biomaterials, biomechanics, tissue healing, and immediate-function dental implants. *J Oral Implantol*, 2004. **30**(5): p. 318-24.
28. Albrektsson, T. and A. Wennerberg, Oral implant surfaces: Part 2--review focusing on clinical knowledge of different surfaces. *Int J Prosthodont*, 2004. **17**(5): p. 544-64.
29. Gotfredsen, K., T. Berglundh, and J. Lindhe, Anchorage of titanium implants with different surface characteristics: an experimental study in rabbits. *Clin Implant Dent Relat Res*, 2000. **2**(3): p. 120-8.
30. Buser, D., et al., Enhanced bone apposition to a chemically modified SLA titanium surface. *J Dent Res*, 2004. **83**(7): p. 529-33.
31. Butz, F., et al., Harder and stiffer bone osseointegrated to roughened titanium. *J Dent Res*, 2006. **85**(6): p. 560-5.
32. Boby, J.D., et al., The effect of porous surface configuration on the tensile strength of fixation of implants by bone ingrowth. *Clin Orthop Relat Res*, 1980(149): p. 291-8.

33. Abrahamsson, I., et al., Early bone formation adjacent to rough and turned endosseous implant surfaces. An experimental study in the dog. *Clin Oral Implants Res*, 2004. **15**(4): p. 381-92.
34. Rupp, F., et al., Enhancing surface free energy and hydrophilicity through chemical modification of microstructured titanium implant surfaces. *J Biomed Mater Res A*, 2006. **76**(2): p. 323-34.
35. Mendes, V.C., R. Moineddin, and J.E. Davies, The effect of discrete calcium phosphate nanocrystals on bone-bonding to titanium surfaces. *Biomaterials*, 2007.
36. Sul, Y.T., et al., Qualitative and quantitative observations of bone tissue reactions to anodised implants. *Biomaterials*, 2002. **23**(8): p. 1809-17.
37. Berglundh, T., et al., De novo alveolar bone formation adjacent to endosseous implants. *Clin Oral Implants Res*, 2003. **14**(3): p. 251-62.
38. Lacefield, W.R., Current status of ceramic coatings for dental implants. *Implant Dent*, 1998. **7**(4): p. 315-22.
39. Kay, J., Calcium Phosphate Coatings for Dental Implants. *Dental Clinics of North America*, 1992. **36**: p. 1-18.
40. Lacefield, W.R., Hydroxyapatite coatings. *Ann N Y Acad Sci*, 1988. **523**: p. 72-80.
41. Aerssens, J., et al., Interspecies differences in bone composition, density, and quality: potential implications for in vivo bone research. *Endocrinology*, 1998. **139**(2): p. 663-70.
42. Buser, D., et al., Interface shear strength of titanium implants with a sandblasted and acid-etched surface: a biomechanical study in the maxilla of miniature pigs. *J Biomed Mater Res*, 1999. **45**(2): p. 75-83.
43. Coelho, P., et al. Nanothickness Bioceramic Coatings: Improving the Host Response to Surgical Implants. in *5th World Congress of Biomechanics*. 2006. Munich, Germany: Medimont.
44. Vercaigne, S., et al., A histological evaluation of TiO<sub>2</sub>-gritblasted and Ca-P magnetron sputter coated implants placed into the trabecular bone of the goat: Part 2. *Clin Oral Implants Res*, 2000. **11**(4): p. 314-24.



45. Coelho P.G. and Lemons J.E. IBAD Nanothick Bioceramic Incorporation on Metallic Implants for Bone Healing Enhancement. From Physico/Chemical Characterization to In-vivo Performance Evaluation. . in Nanotech 2005. 2005. Anaheim, CA.
46. Preti, G., et al., Cytokines and growth factors involved in the osseointegration of oral titanium implants positioned using piezoelectric bone surgery versus a drill technique: a pilot study in minipigs. J Periodontol, 2007. **78**(4): p. 716-22.